ACTA HORTI BERGIANI. BAND 11. N:o 5.

NYMPHAEA DAUBENYANA

EINE ZYTOLOGISCHE STUDIE

VON

OLOV E. V. GELIN

MIT 4 BILDERN IM TEXT

UPPSALA 1932
ALMQVIST & WIKSELLS BOKTRYCKERI-A.-B.
31301

1239.

5. Nymphaea Daubenyana.

Eine zytologische Studie

von

OLOV E. V. GELIN.

Mit 4 Bildern im Text.

Im Sommer 1930 blühte im *Victoria*-Haus des Bergianischen Gartens ein Exemplar von *Nymphaea Daubenyana* hort., und auf die Veranlassung meines Freundes, Amanuensis Bergianus ERIK SÖDERBERG, wurde eine Anzahl Fixierungen im möglichst grossen Umfang vorgenommen. Für diese gute Anregung und für manche wertvolle Ratschläge bringe ich ihm meinen herzlichen Dank.

Ich benutze diese Gelegenheit, um meinem verehrten Lehrer, Professor O. ROSENBERG, meine ausserordentliche Dankbarkeit zu bezeugen für stets gezeigtes Interesse und für die einsichtsvolle Führung, die ich den Vorteil zu geniessen hatte.

Das Material wurde mit modifizierter NAWASCHIN's-Lösung fixiert und mit Gentiana-Violett oder Hämatoxylin gefärbt. Die Schnittdicke variierte zwischen 10 und 12 µ. Die Färbung mit Gentiana-Violett zeigte sich besonders vorteilhaft für das Studium der komplizierten Umstände bei der Meiose.

In der taxonomischen Literatur herrscht eine gewisse Unsicherheit bezüglich der Herstammung von *Nymphaea Daubenyana*. Alle sind wohl darüber einig, dass *N. micrantha* einer der Eltern ist. Wer aber der andere ist, dürfte dagegen recht zweifelhaft sein. CONARD nimmt in seiner grossen *Nymphaea*-Monographie die Kombination *N. micrantha* × *coerulea* auf, und in *Pareys Blumengärtnerei*, Lief. 6, Seite 573, liest man folgendes: »Was gegenwärtig in den meisten Gärten kultiviert wird und in England als *Nymphaea Daubenyana* verbreitet ist, dürfte eine CASPARYSCHE Hybride *N. micrantha* × *coerulea* sein, die unfruchtbar ist».

Da die Chromosomenzahl weder des einen noch des anderen der angenommenen Eltern bekannt ist, kann auch die bei der Hybride gefundenen Chromosomenzahl 42 keinen Aufschluss geben. Die Zahl 42 ist aller Wahrscheinlichkeit nach durch Kopulation zwischen zwei Gameten mit 14 bezw. 28 Chromosomen zu Stande gekommen. Bezüglich des Grössenunterschieds zwischen den Chromosomen, dürfte eine solche möglicherweise vorhanden sein, da einige stets deut-

lich geringer sind als die übrigen. Ich habe wegen der Beschaffenheit des Materials keine Messungen zur Ermittlung von verschiedenen Grössenklassen vorgenommen. Weil die Chromosomenplatten in den Wurzelspitzen durch Verhältnisse, die ich später erwähnen werde, für die Berechnung der Chromosomenzahl nicht immer ganz idealisch gewesen sind, hat man nur durch Vergleich von einer grossen Anzahl von Platten die Möglichkeit gehabt, die Zahl 42 zu erhalten. Wiederholt sind Zahlen, zwischen 39 und 47 wechselnd, erhalten. Hierdurch war ich anfänglich zu glauben geneigt, es wäre in den somatischen Zellen eine Variation vorhanden. Da aber bei den Teilungen keine Störung beobachtet werden konnte, und die deutlichsten Platten die Zahl 42 zeigten, dürfte dies aller Wahrscheinlichkeit nach für die in Frage kommende Hybride karakteristisch sein. Auffallend ist die zwischen den Chromosomen besonders oft vorkommende Gruppenbildung, die in mancher Beziehung an »secondary association» erinnert. Die typischsten Kombinationen bestehen aus drei oder vier radiär von einem gemeinsamen Mittelpunkt aus gerichteten Chromosomen. Ich finde es sehr wahrscheinlich, dass Chromosomen aus demselben Genom sich in dieser Weise zusammenschliessen. Ein bestimmtes Zahlverhältnis betreffs der Affinität zur Gruppenbildung zu erhalten, dürfte unmöglich sein, wie auch LAWRENCE (1931) hinsichtlich »secondary association» angibt.

Das Studium der Meiose ist besonders schwerfällig gewesen, teils infolge der hohen Chromosomenzahl, teils infolge der hier auftretenden äusserst komplizierten Figurationen. Ich würde beinahe behaupten wollen, dass man es hier mit einer Probenkarte der sämtlichen Kombinationen zu tun hat, welche die moderne Zytologie während des letzten Jahrzehntes an den Tag gebracht hat. Irgend welche Regelmässigkeit bei der Verteilung der eingehenden Chromosomenkomplemente zu spüren, hat sich vollkommen unmöglich gezeigt, weil die Bilder von Zell zu Zell wechseln. Leider hat, infolge der Winzigkeit der Chromosomen und deren Geneigtheit, sich zusammenzubacken, die Deutung der Diakinese in P. M. C., welche vielleicht recht manche Aufschlüsse hätte erteilen können, allen meinen Anstrengungen getrotzt. Die Diakinese ist von kurzer Dauer im Vergleich zu vorhergehenden und nachfolgenden Stadien. Fig. 1 *b*, *c* und *d* stammt von geschnittenen P. M. C., von denen *b* aus drei Bivalenten und einem Univalent gebildet zu sein scheint. Fig. 1 *c* und *d* sind aus derselben Diakinese, und die Kombination ist in *c* ein Geminus und drei Univalente, von denen eins mit einem Satellite versehen ist, und in *d* zwei Gemini. Die Insertationspunkte der Konnexe scheinen irgendwelchen beliebigen Platz auf der Chromosomenoberfläche einnehmen zu können und nicht notwendigerweise wie in *c* bei den Polenpunkten der Bivalente. In *d* ist die Bindung gewiss sehr kräftig, da zwei Plasmafäden die beiden Bivalente vereinigen. Übrigens kommen Univalente, Gemini und Trivalente sowie, wie oben angedeutet, Ketten von allerlei Konstitutionen vor, wie auch äusserst kleine Partikelchen augenscheinlich fragmentarischer Art. Diese können selbstverständlich der Ursprung der satellitähnlichen Bildungen sein, die in Fig. 1 *c* und *g* dargestellt worden sind. Es scheint, als ob die Chromosomen während der Diakinese kontrahiert werden. Ob dies auf das benutzte Fixierungsmittel zurückzuführen oder eine zytologische Erscheinung ist, muss

dahingestellt werden, da nur eine Fixierungsflüssigkeit verwendet wurde. Jedenfalls zeigt die einsetzende Metaphase bedeutend grössere Chromosomen.

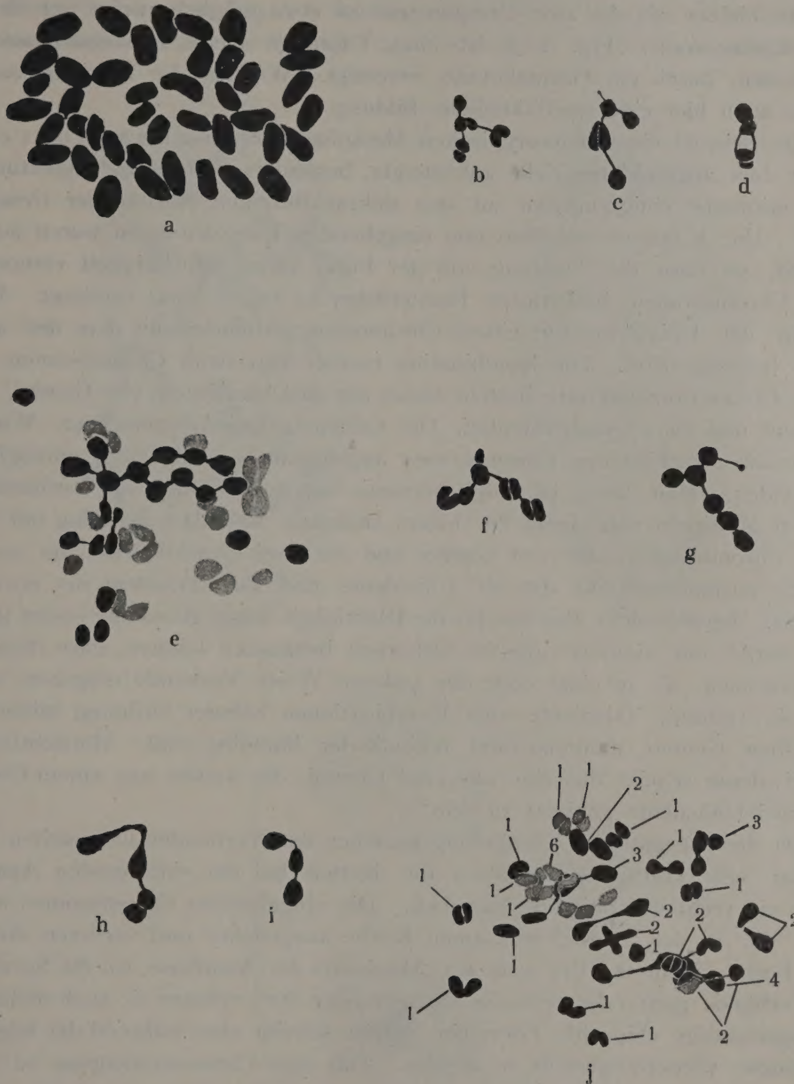


Fig. 1. *a* somatische Metaphase. *b—d* Chromosomenkombinationen aus der Diakinese. *b* von einer P. M. C., *c* und *d* von derselben. *e* P. M. C. in Metaphase, *f* und *g* Kettentypen aus verschiedenen Metaphasen. *h—j* eintretende Anaphase, *h* und *i* Typen aus verschiedenen Anaphasen, *j* Totalbild einer Anaphase. Die Ziffern bedeuten die Anzahl der Chromosomen innerhalb der Verbände, also 1 Univalent, 2 Gemini u. s. w. Leitz Oel imm. 1/16, Ok. 25 ×.

Infolge der völligen Disharmonie zwischen den eingehenden Genomen entsteht auch keine wirkliche Äquatorialplatte, sondern die Chromosomen liegen in der Äquatorialzone gestreut. Besonders auffallend ist das reichliche Vorkommen von Ketten der kuriösesten Kombinationen. Fig. 1 *f* und *g* zeigen ein Paar

Typen von verschiedenen Metaphasen, von denen *f* aller Wahrscheinlichkeit nach aus drei Gemini und zwei oder drei Univalenten gebildet ist. Das dritte Univalent ist kleiner als die zwei Übrigen und ist etwa möglicherweise nur ein Teil eines Chromosoms. Fig. I *g* ist eine T-förmige Kette, entstanden aus zwei Trivalenten, durch ein Plasmakonnex vereinigt. Wie aus der Figur hervorgeht, gibt es auch hier eine satellitähnliche Bildung.

Als Beispiel einer heterotypischen Metaphase verweise ich auf Fig. I *e*. Der in der hier abgebildeten Zelle auftretende, besonders schöne und eigentümliche Ring erinnerte einigermassen an den zickzackförmigen Aufbau der *Oenothera*-Ringe. Die Konnexe zwischen den eingehenden Komplementen waren äusserst deutlich, so dass die Deutung von der Figur keine Schwierigkeit verursachte. Acht Chromosomen sind durch Plasmafäden zu einem Ring vereinigt. Ferner ist eins der Univalente mit einem Chromosom verbunden, an dem drei andere radiär befestigt sind. Die Kombination enthält also zwölf Chromosomen. Der übrige Chromosomenaufsatz besteht ferner aus elf Univalenten, vier Gemini, einem Trivalent und zwei Quadrivalenten. Die Gesamtzahl wird demnach 42. Welchem Genom die verschiedenen Chromosomen angehören, ist vollständig unmöglich zu entscheiden. Man kann ja möglicherweise annehmen, dass die Verbände mit geraden Multipeln von einem der Eltern stammen, also dass der Ring mit seinen zwölf Chromosomen, die vier Gemini und die zwei Quadrivalente der *coerulea*-Aufsatz ausmachen und die elf Univalente und das Trivalent der *micrantha* gehören. Irgendwelche Beweise für die Richtigkeit dieser Annahme fehlen jedoch. Man dürfte mit ziemlich grosser Sicherheit behaupten können, dass diejenigen Chromosomen, die in einer oder der anderen Weise Verbände eingehen, sei es, dass sie Gemini, Trivalente oder Kombinationen höherer Ordnung bilden, von demselben Genom stammen und miteinander homolog sind. Hinsichtlich der Quadrivalente scheint das eine aus zwei Gemini, das andere aus einem Geminus und zwei Univalente gebildet zu sein.

Da die plasmatische Verbindung zwischen den Verbänden in manchen Fällen offenbar sehr kräftig ist, erhalten die Ketten bei der eintretenden Anaphase häufig ein recht deformiertes Aussehen. Die eingehenden Chromosomen werden durch die in der Spindel wirksamen Kräfte ausgedehnt und verlieren ihre normale Form. Während des späteren Abschnitts der Anaphase, wo die Sprengung der Verbände ganz oder teilweise stattgefunden hat, nehmen sie auch nicht mehr die regelmässige ellipsoide Form ein. Diese scheint aber während der folgenden Interkinese wiederhergestellt zu werden. Das eine Chromosomenpaar ist in der Kette in Fig. I *h* bedeutend ausgedehnt, und dasselbe Phänomen kann auch in Fig. I *j* verspürt werden. Die letzterwähnte Figur sucht eine eintretende Anaphase, rechtwinkelig gegen die Längsachse der Spindel gesehen, zu veranschaulichen. Die Deutung dieses und des nächstfolgenden Stadiums ist mir sehr schwer gefallen, teils infolge der gegenseitigen Lage der Chromosomen, teils durch die schon hier eintretende homotypische Teilung. Die spätere Hälfte der Anaphase gibt aber für die überraschenden Verhältnisse Beleg, die hier aufzutreten anfangen. Besonders schwer zu entscheiden ist die Frage, ob man es hier mit geteilten Univalenten oder Gemini zu tun hat, weil der Grössenunter-

schied der Chromosomen nicht immer bestimmt werden kann, da diese sich in grösseren oder kleineren Winkeln gegen die Längsachse der Spindel einstellen.

Eine Analyse von Fig. 1 *j* hat folgendes Resultat ergeben: Von univalenten Chromosomen enthält die Spindel 14. Von diesen sind 9 eine Längsspaltung

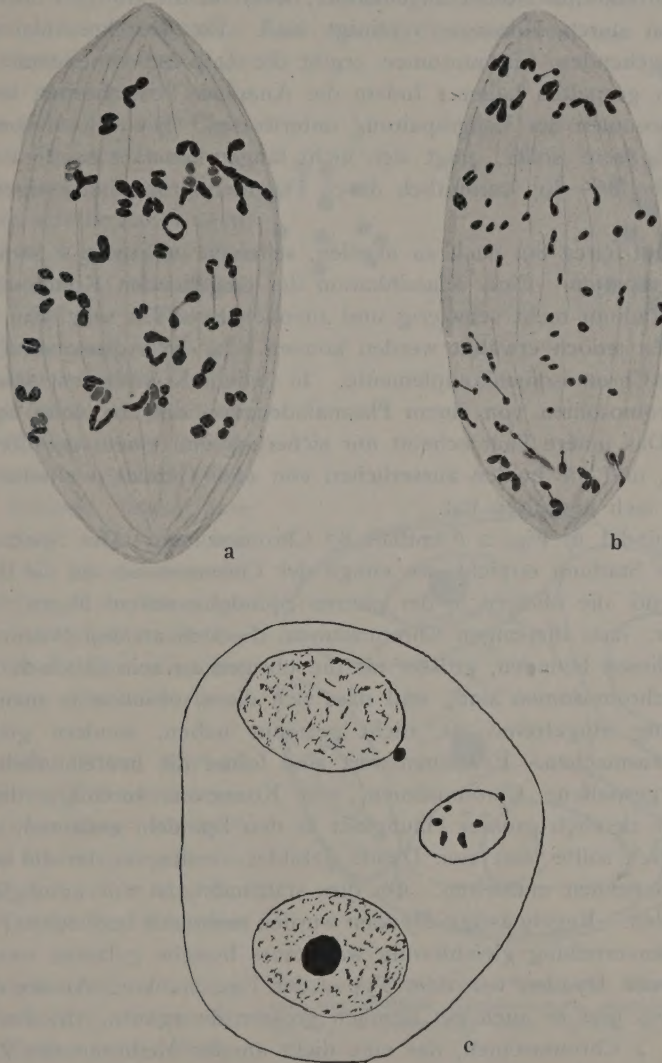


Fig. 2. *a* und *b* Anaphasen, *c* Dyade. *a*, *b* Leitz Oel imm. $^{1}/_{16}$ Ok. 25, *c* Ok. 15 ×.

durchgegangen, während 5 noch als homogene Körper erscheinen. 6 Gemini sind vorhanden, von denen sich 5 ungefähr bei dem Äquator befinden. In einem Geminus haben sich die beiden Komponenten der Länge nach gespaltet, und in einem anderen hat sich nur eins der Chromosomen geteilt. Ferner gibt es 2 Trivalente, von denen das eine eine Kette bildet, in der die Chromosomen durch

Konnexe verbunden sind, das andere dagegen möglicherweise aus einem Geminus und einem Univalent zusammengesetzt zu sein scheint. Von höheren Kombinationen beobachtet man eine Kette, 4 Chromosomen enthaltend, und eine, aus 6 Komponenten zusammengesetzt. In der erstgenannten Kette liegen die zwei mittleren Chromosomen dicht an einander, während die übrigen mit den Mittenchromosomen durch Konnexe vereinigt sind. Ein Durchrechnen der in der Spindel eingehenden Chromosomen ergibt die Zahl 42, von denen 12 sich der Länge nach gespalten haben. Indem die Anaphase fortschreitet, werden sämtliche Chromosomen der Längsspaltung unterworfen. Die Chromosomenzahl, die teoretisch 84 sein sollte, zeigt sich nicht länger konstant sondern wird immer etwas grösser (86—89), vermutlich durch Fragmentierung bei einigen der Chromosomen.

Der Zahl (circa 89) nach zu urteilen, scheinen in Fig. 2 *a* sämtliche Chromosomen gespalten. Eine Klassifikation der eingehenden Komponenten würde in diesem Stadium recht schwierig und ziemlich zwecklos sein. Ein Paar Einzelheiten dürften jedoch erwähnt werden können. In der Äquatorzone der Spindel liegen drei Chromosomenkomplemente. In jedem Komplement sind die eingehenden Chromosomen von einem Plasmafaden von der Art eines Spindelfadens vereinigt. Das innere Paar scheint mir sicherlich von einem geteilten Univalent herzurühren, und die beiden äusserlichen von zwei Gemini, wo jedes eingehende Chromosom sich gespalten hat.

Die Spindel in Fig. 2 *b* enthält 87 Chromosomen. Der Spaltungsvorgang hat hier das Stadium erreicht, wo einige der Chromosomen an die Polen gelangt sind, während die übrigen in der ganzen Spindel zerstreut liegen. Bemerkenswert ist hier, dass diejenigen Chromosomen, die sich an den Polen oder in der Nähe von diesen befinden, grösser als die übrigen zu sein scheinen und vermutlich Geminichromosomen sind, und dass sich diese, obschon in manchen Fällen Längsspaltung eingetreten ist, nicht getrennt haben, sondern geminiähnliche Bildungen ausmachen. Erwähnenswert sind ferner die hantelähnlichen Figuren, vermutlich gespaltene Chromosomen, von Konnexen vereinigt, die in diesem Stadium mit ziemlich grosser Häufigkeit in den Spindeln auftreten.

Teoretisch sollte jetzt eine Dyade gebildet werden, in der die beiden Kerne je 42 Chromosomen enthielten. Ob dies stattfindet, ist mir unmöglich gewesen zu entscheiden. Regelmässige Dyaden wurden mehrmals beobachtet; ob aber die Chromosomenverteilung gleichförmig war, muss beiseite gelassen werden. Recht häufig kommen Dyaden von dem Typus der Fig. 2 *c* vor. Ausser den gewöhnlichen Kernen gibt es auch ein ziemlich grosser Zwergkern. In dem Plasma befinden sich 2 Chromosomen, das eine dicht an der Membran des Zwergkernes, das andere an derjenigen des Dyandenkernes liegend. In dem hier abgebildeten Falle dürfte der Zwergkern mit 5 Chromosomen ausgestattet sein. Es ist schwer zu sagen, was mit diesen Nachzüglern geschieht; ich bin aber zu glauben geneigt, dass sie während der Interkinese unverändert bestehen bleiben und in die Spindel der homotypischen Teilung eingehen.

Die homotypische Teilung zeichnet sich durch einen ziemlich regelmässigen Verlauf aus. In keinem Fall konnte das Vorhandensein von Extraspindeln ver-

spürt werden, auch keine Zusammenschmelzung der beiden ordinarien Spindeln. Die neue Spaltung, welche hier eintritt, zeigt sich für alle Chromosomen durchgehend. Bemerkenswert ist aber, dass sich nur wenige der neben einander liegenden Chromosomenhälfte wirklich trennen. Die übrigen wandern paarweise an die Polen, Fig. 3 *a*. Mit dieser Spaltung erhalten wir also in jeder der beiden Spindeln eine teoretische Zahl von 84 Chromosomen, und falls die Verteilung derselben gleichförmig geschieht, wird somit eine Tetrade gebildet, wo jeder Kern 42 Chromosomen enthält, oder, anders ausgedrückt, die fertigen Pollenkörner werden die somatische Zahl tragen. Dies dürfte auch in gewissen Fällen zutreffen, wo eine Tetrade ohne Zwergkerne auftritt. Tetraden ohne Zwergkerne sind, wenn auch selten, beobachtet worden. In den meisten Fällen jedoch werden durch verspäteten Chromosomen Zwergkerne wechselnder Anzahl gebildet. Die höchste beobachtete Kernenzahl einer »Tetrade» war 7—8 (Fig. 3 *b*). Die Grössen der in einem solchen Komplex eingehenden Kerne wechseln sehr beträchtlich, und die Chromosomenzahl scheint von eins aufwärts zu variieren.

Gewöhnlich fehlen Nucleoli in verschiedenen Tetradenkernen. Dieselbe Beobachtung ist auch bezüglich der Dyade gemacht, wo, wie in Fig. 2 *c*, einer von den ordinarien Kernen den Nucleolus vermisst.

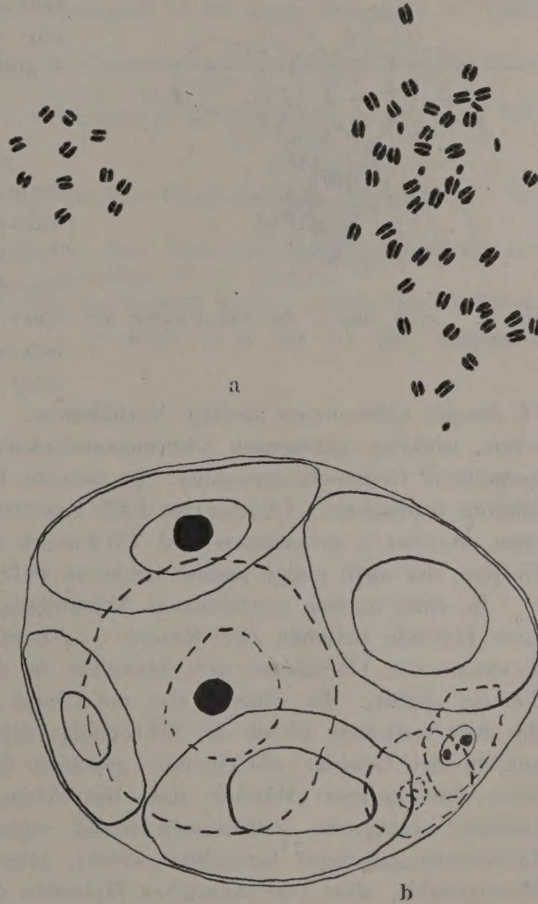


Fig. 3. *a* homotypische Anaphase. Eine der Spindeln nur mit einigen Chromosomen angedeutet. *b* »Tetrade». *a* Leitz Oel imm. 1/16 Ok. 25, *b* Ok. 15 ×.

Die Tetrade zerfällt allmählich in freie Pollenkörner, die in allen Graden von Grösse in den Pollenfächern zerstreut liegen. Eine Teilung der Pollenkörner wurde trotz eifrigen Suchens nicht beobachtet. Jedoch dürfte eine solche in ziemlich hoher Prozentzahl stattfinden, da das Vorhandensein von zweikernigen Pollenkörnern recht gewöhnlich ist. Bezüglich der Fertilität wage ich mich keineswegs mit Sicherheit zu äussern, bin aber der Vermutung, es liege einer gewissen Grad von Fertilität vor.

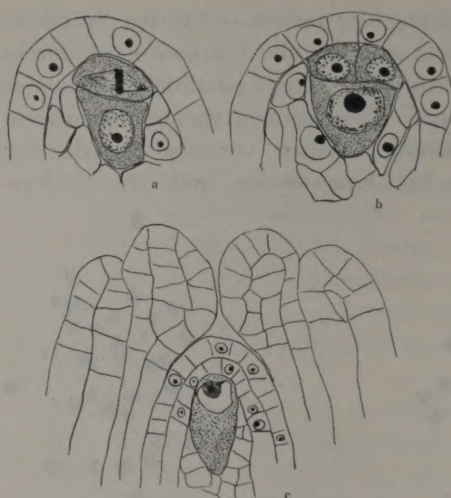


Fig. 4. *a*, *b* und *c* die Entwicklung des Archespors. Obj. 7 *a*, Ok. 15 ×. Verm. ¹/₃.

Betreffend die embryologischen Verhältnisse ist wenig zu sagen. Von der Archesporzelle wird eine Deckzelle abgesondert, die sich ihrerseits später teilt. Nach diesem Stadium wird die E. M. C. ausdifferenziert, und die Entwicklung hört auf infolge eintretender Verschleimung und Auflösung (siehe Fig. 4 *a*, *b* und *c*).

Die oben in Einzelheiten geschilderte erste Teilung der Meiose kann unzweifelhaft als eine semiheterotypische Teilung von *Hieracium boreale*-Typus klassifiziert werden, hier, wie dort, mit einer homotypischen Teilung in die heterotypische eingeschoben. Fig. 2 *b* zeigt auch in gewissen Einzelheiten mit *H. boreale* vollkommen analoge Verhältnisse. Die an den Polen liegenden grösseren, winkelig gebogenen Chromosomenpaare sind wie bei *H. boreale* längsgespaltene Geminichromosomen. In keinem Fälle wurde eine Restitutionskernbildung beobachtet. Gleichartige Fälle beschreiben ROSENBERG (1917) bei *Hieracium excellens* × *aurantiacum* und TÄCKHOLM (1922) innerhalb der *Rosa canina*-Gruppe, der auch einige andere bekannte Fälle zur Diskussion aufnimmt.

In einer neulich erschienenen Abhandlung erwähnt BEADLE (1932), dass in einer Hybride zwischen zwei Rassen — *Florida* und *Durango* — von *Euchlaena mexicana* die Univalente sich bisweilen in der Anaphase der heterotypischen Teilung spalten. Es scheint mir, auf Grund der ausserordentlichen Störungen, die hier auftreten, als ob die Schlussfolgerung ziemlich berechtigt sei, dass die eingehenden Genome von einander genetisch oder physiologisch weit verschieden seien; mit anderen Worten, dass die Arten, die in dieser Hybride eingehen, einander wenigstens vollkommen fremd seien und als Endpunkte eines jeden Entwickelungszweiges betrachtet werden müssen. CONARD erwähnt in seiner Monographie, dass von sämtlichen Hybriden der Gruppe *Brachyceras* alle steril sind mit Ausnahme von *N. capensis* × *zanzibariensis*. Diese zwei Arten sind einander sehr nahestehend, und man betrachtet *N. zanzibariensis* als Varietät der *N. capensis*. Nach LANGLET und SÖDERBERG (1927) hat *N. capensis* var. *zanzibariensis* 14 Chromosomen, und diese Verfasser vermuten, dass dies mit *N. capensis* auch der Fall ist.

Betreffend die Verwandtschaft der *Nymphaea*-Arten dürfte nur eine systematisch ausgeführte zytologisch-genetische Untersuchung eine Lösung ergeben können.

Stockholms Högskola, Botanisches Institut, im Oktober 1932.

Zitierte Literatur.

BEADLE, G. W., Studies of Euchlaena and its Hybrids with Zea. 1. Chromosome Behavior in Euchlaena mexicana and its Hybrids with Zea mays. — Zeitschr. für Induktive Abstammungs- und Vererbungslehre, B. LXII, H. 3, Leipzig 1932.

CONARD, H. S., The Waterlilies. A monograph of the genus Nymphaea. — Baltimore 1905.

LANGLET, O., und SÖDERBERG, E., Über die Chromosomenzahlen einiger Nymphaeaceen. — Acta Horti Bergiani, B. 9, Uppsala 1927.

LAWRENCE, W. J. C., The Secondary Association of Chromosomes. — Cytologia, Vol. 2, No. 4, Tokyo 1931.

Pareys Blumengärtnerei. 1930—1932.

ROSENBERG, O., Die Reduktionsteilung und ihre Degeneration in Hieracium. — Sv. Bot. Tidskr., B. 11, 1917.

—— Die semiheterotypische Teilung und ihre Bedeutung für die Entstehung verdoppelter Chromosomenzahlen. — Hereditas, B. 8, 1927.

TÄCKHOLM, G., Zytologische Studien über die Gattung Rosa. — Acta Horti Bergiani, B. 7, 1922.

Gedruckt den 25. November 1932.